

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20170528002

欧阳小庆, 吴迟, 王长宾, 等. 肝菌酯对环境生物急性毒性及安全性评价[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 327-336

Ouyang X Q, Wu C, Wang C B, et al. Acute toxicity and safety evaluation of trifloxystrobin to environmental organisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 327-336 (in Chinese)

肝菌酯对环境生物急性毒性及安全性评价

欧阳小庆^{1,2}, 吴迟², 王长宾², 周倩², 孙田², 何明远^{2,*}

1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128

2. 北京依科世福科技有限公司, 北京 100096

收稿日期: 2017-05-28 录用日期: 2017-10-12

摘要: 本试验通过研究肝菌酯对 10 种环境生物急性毒性效应, 以期评价其对环境生物的毒性风险。结果表明, 肝菌酯对日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*)的经口毒性 7 d-LD₅₀ 和短期饲喂毒性 8 d-LC₅₀ 分别大于 2.00×10^3 mg a.i. · kg⁻¹ bw 和 5.00×10^3 mg a.i. · kg⁻¹ 饲料, 意大利蜜蜂(*Apis mellifera L.*)接触与经口毒性 48 h-LD₅₀ 分别为大于 $100 \mu\text{g}$ a.i. · bee⁻¹ 和 $95.3 \mu\text{g}$ a.i. · bee⁻¹, 家蚕(*Bombyx mori*) 96 h-LC₅₀ 为 1.61×10^3 mg a.i. · L⁻¹, 蚯蚓(*Eisenia foetida*) 14 d-LC₅₀ 大于 100 mg a.i. · kg⁻¹ 干土, 赤眼蜂(*Trichogramma japonicum*) 24 h-LR₅₀ 为 $0.337 \mu\text{g}$ a.i. · cm⁻², 羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*) 72 h-EC₅₀ 为 5.80×10^3 mg a.i. · L⁻¹, 大型溞(*Daphnia magna* Straus) 48 h-EC₅₀ 为 1.72×10^{-2} mg a.i. · L⁻¹, 斑马鱼(*Brachydanio rerio*) 96 h-LC₅₀ 为 5.40×10^{-2} mg a.i. · L⁻¹, 非洲爪蟾(*Xenopus laevis*) 蝌蚪 96 h-LC₅₀ 为 8.95×10^{-2} mg a.i. · L⁻¹, 土壤微生物 28 d 硝酸盐转化速率差异小于 25%。因此, 根据《化学农药环境安全评价试验准则》毒性等级划分标准, 肝菌酯对鸟、蜜蜂、家蚕、蚯蚓等陆生生物为低毒, 对水生生物的绿藻、大型溞、斑马鱼、非洲爪蟾蝌蚪均为高毒或剧毒, 而对天敌赤眼蜂属高风险, 故在田间使用过程中应采取措施降低其对水生生物以及天敌昆虫赤眼蜂急性毒性风险, 以免造成危害。

关键词: 肝菌酯; 环境生物; 急性毒性; 安全性评价

文章编号: 1673-5897(2017)4-327-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity and Safety Evaluation of Trifloxystrobin to Environmental Organisms

Ouyang Xiaoqing^{1,2}, Wu Chi², Wang Changbin², Zhou Qian², Sun Tian², He Mingyuan^{2,*}

1. Plant Protection College, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. Beijing ECO-SAF Technology Co., Ltd., Beijing 100096, China

Received 28 May 2017 accepted 12 October 2017

Abstract: We have tested trifloxystrobin on 10 kinds of non-target organisms to evaluate its toxicity risk to environmental organisms. Test results showed that the 7 d-LD₅₀ of acute oral toxicity and 8 d-LC₅₀ of dietary toxicity on *Coturnix coturnix japonica* were $>2.00 \times 10^3$ mg a.i. · kg⁻¹ bw and $>5.00 \times 10^3$ mg a.i. · kg⁻¹ diet, respectively; 48 h-LD₅₀ of acute contact toxicity and oral toxicity on *Apis mellifera L.* were $>100 \mu\text{g}$ a.i. · bee⁻¹ and $>95.3 \mu\text{g}$ a.i. · bee⁻¹, respectively; 96 h-LC₅₀ of *Bombyx mori* was 1.61×10^3 mg a.i. · L⁻¹; 14 d-LC₅₀ of *Eisenia foetida* was >100

作者简介: 欧阳小庆(1993-), 女, 在读硕士, 研究方向为农药毒理与环境安全评价, E-mail: 1950657067@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: hnhy@126.com

$\text{mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil, 24 h- LR_{50} of *Trichogramma japonicum* was $0.337 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{cm}^{-2}$; 72 h- EC_{50} of *Pseudokirchneriella subcapitata* was $5.80 \times 10^{-3} \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 48 h- EC_{50} of *Daphnia magna* Straus was $1.72 \times 10^{-2} \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 96 h- LC_{50} of *Brachydanio rerio* was $5.40 \times 10^{-2} \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 96 h- LC_{50} of *Xenopus laevis* was $8.95 \times 10^{-2} \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; the difference of 28 d nitrate transformation rate of soil microorganism was $<25\%$. According to the pesticide virulence classification standard suggested by Chemical Pesticides Environmental Safety Evaluation Test Guidelines, the test results indicated that the trifloxystrobin is low toxic to terrestrial organisms (quail, honeybee, silkworm and earthworm) but highly or extremely toxic to aquatic organisms (alga, daphnia, fish and *Xenopus laevis*). It also can expose high risk to *Trichogramma*. When trifloxystrobin is deployed to farm fields, certain safety measures shall be taken to reduce its harm and risk to aquatic organisms and *Trichogramma*.

Keywords: trifloxystrobin; environmental organism; acute toxicity; safety evaluation

肟菌酯是从天然产物 Strobilurins 成功开发的一类含氟类广谱杀菌剂,有保护、治疗、渗透、内吸活性、耐雨水冲刷、持效期长等特性^[1],并且几乎对所有真菌纲病害有良好活性。然而目前有关肟菌酯对不同环境非靶标生物的毒性研究存在较大空白,已有报道主要针对赤眼蜂、热带爪蟾和青鳉鱼胚胎的毒性效应研究,证明在低浓度水平下肟菌酯对两栖类动物的生存与发育以及对鱼类早期发育有一定影响^[2-4]。但对其他生态系统中常见的环境非靶标生物,如蚯蚓(*Eisenia foetida*)、蜜蜂(*Apis mellifera L.*)、家蚕(*Bombyx mori*)、鱼类、水生无脊椎动物以及藻类等的研究较少。而以上非靶标生物在化学农药的施用过程中造成的死亡,会影响自然群落以及整个生态系统^[5-6]。利用以实验室获得单一生态物种毒性数据为基础的生态风险评价^[7],是预测农药在环境中产生不良潜在风险以及其程度的科学技术。因此,开展肟菌酯对非靶标环境生物的毒性研究对风险评价有重大的意义。本文参照 OECD、EPA 测试指南,以及《化学农药环境安全评价试验准则》标准方法^[8-15],分别测定肟菌酯对以下环境生物——日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*)、意大利蜜蜂(*Apis mellifera L.*)、家蚕(*Bombyx mori*)、赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)、赤眼蜂(*Trichogramma japonicum*)、斑马鱼(*Brachydanio rerio*)、大型溞(*Daphnia magna* Straus)、羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)、非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)蝌蚪以及土壤微生物的急性毒性效应,并以此为依据评价该杀菌剂的环境危害并为其在田间合理使用提供理论依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

1.1.1 供试农药

98% 脲菌酯原药由农业部药检所提供,具体溶

液配制过程在 1.2 小节测试方法中给出。

1.1.2 供试生物

供试生物如表 1 所示。

1.1.3 供试仪器

分析天平(ME104,美国,梅特勒-托利)、便携式 pH 计(SG-2,美国,梅特勒-托利多)、便携式溶解氧测定仪(Seve2Go-S4,美国,梅特勒-托利多)、水质硬度计(YD-300,中国,上海三信仪表厂)、高效液相色谱仪(LC-20A,日本,岛津)、三重四级杆液相色谱质谱联用仪(LCMS-8050,日本,岛津)、低速台式离心机(TDL-5A,中国,上海安亭科学仪器厂)等。

1.2 试验方法

本研究主要以《化学农药环境安全评价试验准则》为依据,进行典型非靶标生物的急性毒性试验,并建立分析方法在水生生物试验中对真实浓度的检测。

1.2.1 生物毒性试验

1.2.1.1 鸟类急性毒性试验

日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*),选用同批孵化出壳的鹌鹑,以雏鸡饲料饲喂。饲喂试验选用 15 日龄,平均体重为 33.9 g;急性经口试验选用 32 日龄,平均体重为 97.2 g。

经口毒性:采用胶囊直接灌胃的方式进行染毒。试验设置 $2.00 \times 10^3 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ bw 1 个处理浓度,根据处理组鸟的平均体重,每个胶囊装药量平均为 0.2044 g,每只鹌鹑灌喂 2 颗胶囊。空白对照灌喂 2 颗空胶囊,每处理 10 只鹌鹑,雌雄各半分笼放置且试验前禁食 12 h。染毒处理后 2 h 进行正常饲喂,在给药后 8 h 以及随后连续 7 d 每 24 h 观察鹌鹑的中毒症状与死亡数,并计算半数致死剂量 7 d-LD₅₀(半致死剂量)。

短期饲喂毒性:用丙酮配制试验药液与饲料均匀搅拌,待丙酮在通风橱内完全挥发,得到浓度为

5.00×10^3 mg a.i. · kg⁻¹ 饲料。另设空白对照组和溶剂对照组,每个处理组 10 只鹌鹑,雌雄各半分笼放置染毒。试验周期为 8 d,前 5 d 饲喂染毒饲料,后 3 d 饲喂正常饲料,并于饲喂后 8 h 以及随后每 24 h 观察鹌鹑的中毒症状、死亡数,并计算半数致死浓度 8 d-LC₅₀(半致死浓度)。

1.2.1.2 蜜蜂急性毒性试验

意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.),室外自然条件下饲养,试验前选用健康、蜂龄一致的成年工蜂用于试验。

点滴法:用丙酮配制最终点滴剂量为 100 μg a.i. · 蜂⁻¹ 的试验药液。将 2 μL 药液点滴于麻醉后蜜蜂的中胸背板,在蜜蜂完全恢复前移入试验蜂笼,用浸泡蔗糖水的脱脂棉饲喂试验蜜蜂。同时设置空白对照组和溶剂对照组。每处理 3 个重复,每个重复 10 只蜜蜂。试验周期为 48 h,每 24 h 观察记录蜜蜂的中毒症状和死亡数,并计算 48 h-LD₅₀。

饲喂管法:将肟菌酯用 1.0 mL 丙酮和 0.2 mL 5% 吐温-80 水溶液助溶后,用 50% 蔗糖水配制得到饲喂剂量为 100 μg a.i. · 蜂⁻¹ 药液。在麻醉后蜜蜂完

全恢复前移入蜂笼,将装有 200 μL 试验药液的饲喂管挂至蜂笼内供蜜蜂取食。观察药液消耗情况,待药液消耗完毕取出饲喂器并称重,换 50% 蔗糖水进行正常饲喂,根据药液实际消耗量计算实际染毒剂量。同时设置空白对照组和助溶剂对照组。每处理 3 个重复,每个重复移入 10 只蜜蜂。试验周期为 48 h,药剂处理后每 24 h 观察记录蜜蜂的中毒症状和死亡数,并计算 48 h-LD₅₀。

1.2.1.3 家蚕急性毒性试验

家蚕(*Bombyx mori*),选用品种为九美×七湘。染毒方式采用浸叶法。将肟菌酯用 1.0 mL 丙酮和 0.2 mL 5% 吐温-80 水溶液助溶后,用蒸馏水配制浓度为 800、 1.20×10^3 、 1.80×10^3 、 2.70×10^3 、 4.05×10^3 mg a.i. · L⁻¹ 药液。每处理组将 5 g 桑叶浸渍于 50 mL 试验药液中,待药液均匀分布于叶面后取出阴干,将处理后桑叶置于培养皿后接入二龄起蚕。同时设有空白对照和助溶剂对照组。每处理 3 个重复,每个重复引入 20 头蚕。试验周期为 96 h,每 24 h 观察记录家蚕中毒症状和死亡数,并计算 96 h-LC₅₀。

表 1 供试生物信息
Table 1 Information of test species

供试生物 Test organisms	品种 Species	引种来源 Source
鸟类 Avian	日本鹌鹑 (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	北京依科世福科技有限公司 Beijing ECO-SAF Technology Co., Ltd
蜜蜂 Honeybee	意大利蜜蜂 (<i>Apis mellifera</i> L.)	中国农业科学院蜜蜂研究所 Institute of Apicultural Research
家蚕 Silkworm	家蚕 (<i>Bombyx mori</i>)	湖南省蚕桑研究所 Sericulture Research Institute of Hunan Province
蚯蚓 Earthworm	赤子爱胜蚓 (<i>Eisenia fetida</i>)	北京绿环泰和生物科技有限公司 Beijing Lvhuant Biotechnological Co., Ltd
藻类 Alga	羊角月牙藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	中科院水生物所武汉淡水藻种库 Freshwater Algae Culture Collection at the Institute of Hydrobiology
溞类 Daphnia	大型溞 (<i>Daphnia magna</i> Straus)	中国疾病预防控制中心 Chinese Center for Disease Control and Prevention
鱼类 Fish	斑马鱼 (<i>Brachydanio rerio</i>)	北京十里河草港鱼湾观赏鱼经营部 Beijing Shilhe fish shop
天敌两栖类 Amphibian	非洲爪蟾 (<i>Xenopus laevis</i>)	上海茂生生物科技发展有限公司 Shanghai MAOSHENG Biologic Science & Technology Development Co., Ltd
土壤微生物 Soil microorganism	潮土 (Fluovo-aquic soil)	北京市延庆区康西草原 Beijing Yanqing Kangxi Pasture
寄生性天敌昆虫类 Parasitic insects	稻螟赤眼蜂 (<i>Trichogramma japonicum</i>)	北京农林科学院 Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences

1.2.1.4 蚯蚓的急性毒性试验

赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*), 试验前选择体重为 300~600 mg、环带明显、大小一致的成蚓置于人工土壤中驯化 24 h 用于试验。将肟菌酯用丙酮溶解后与 10 g 石英砂均匀混合, 待丙酮完全挥发后, 与人工土壤搅拌均匀得到浓度为 100 mg a.i. · kg⁻¹ 干土试验土壤。另设空白对照组和溶剂对照组。每处理 3 个重复, 每个重复引入 10 条蚯蚓。试验周期为 14 d, 暴露后的 7 d 和 14 d 观察中毒症状和死亡数, 并计算 14 d-LC₅₀。

1.2.1.5 天敌赤眼蜂急性毒性试验

稻螟赤眼蜂(*Trichogramma japonicum*), 试验前将卵卡置于人工气候箱中孵化, 羽化出的成蜂用于试验。采用药膜法进行染毒。用丙酮将肟菌酯配制为 5.00、8.00、12.8、20.5、32.8 mg a.i. · L⁻¹ 试验药液, 将 0.7 mL 药液置于表面积为 33 cm² 螺口瓶充分滚吸形成药膜后, 放入 48 h 内羽化的赤眼蜂, 自由爬行 1 h 后转入无药的螺口瓶中观察 24 h 后的存活蜂数, 并根据药膜表面积计算半致死残留量 LR₅₀。同时设空白对照组和溶剂对照组。每处理 3 个重复, 每个重复转入 90~100 头赤眼蜂。

1.2.1.6 绿藻生长抑制毒性试验

羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*), 选取达到同步生长阶段的藻用于试验。将肟菌酯溶解于 BG11 培养基充分溶解过滤后获得饱和溶液, 随后稀释为 1.5×10⁻²、4.3×10⁻²、0.122、0.350 倍饱和溶液的试验药液。在无菌条件下, 将试验药液和藻液 1:1 混合均匀, 得到初始细胞浓度为 1.00×10⁵ 个·L⁻¹ 染毒藻液。设置空白对照组, 每处理 3 个重复。试验周期为 72 h, 每 24 h 用紫外-可见分光光度计测定藻液浓度, 并计算半数抑制浓度 72 h-LC₅₀(半抑制浓度)。

1.2.1.7 大型溞急性抑制毒性试验

大型溞(*Daphnia magna* Straus), 试验选择出生小于 24 h 的幼溞。采用半静态方式暴露, 换液周期为 24 h。将肟菌酯充分溶解于去氯自来水获得饱和溶液, 而后稀释得到浓度为 0.01、1.6×10⁻²、2.56×10⁻²、4.10×10⁻²、6.55×10⁻²、0.105 倍饱和溶液的药液。

另设置空白对照, 每个处理 4 个重复, 每个重复投入 5 只幼溞。在 48 h 试验周期内, 每 24 h 观察幼溞受抑制情况, 并计算 48 h-EC₅₀。

1.2.1.8 斑马鱼急性毒性试验

斑马鱼(*Brachydanio rerio*), 在试验前驯化 7 d, 选用鱼平均全长为 2.16 cm, 平均体重为 0.0554 g。采用半静态法染毒, 每 24 h 换液。将肟菌酯用 1.0 mL 丙酮和 0.5 mL 5% 吐温-80 水溶液助溶后, 用蒸馏水配制获得储备液, 分别移取储备液至已装有 3 L 去氯自来水的鱼缸中, 搅拌均匀获得浓度为 7.00×10⁻²、9.45×10⁻²、0.128、0.172、0.233、0.314 mg a.i. · L⁻¹ 试验药液。另设置空白对照组和助溶剂对照组, 各组无重复, 每组 10 尾鱼。在 96 h 试验周期内, 6 h 以及每 24 h 记录试验用鱼的死亡数和中毒症状, 并计算 96 h-LC₅₀。

1.2.1.9 非洲爪蟾急性毒性试验

非洲爪蟾(*Xenopus laevis*), 试验前蝌蚪在试验条件下驯化 3 d。试验蝌蚪龄期为 6 d, 平均体长为 1.58 cm, 平均体重为 0.0182 g。采用半静态法, 每 24 h 更换一次药液。将肟菌酯用 1.0 mL 丙酮和 0.5 mL 5% 吐温-80 水溶液助溶后, 用蒸馏水配制获得储备液, 分别移取不同体积的储备液至已装有 1 L 去氯自来水的鱼缸中, 搅拌均匀获得浓度为 2.00×10⁻²、2.72×10⁻²、3.70×10⁻²、5.03×10⁻²、6.84×10⁻²、9.31×10⁻² mg a.i. · L⁻¹ 试验药液。设置空白对照组和助剂对照组, 试验无重复, 每组 10 只蝌蚪。在 96 h 试验周期内, 6 h 以及每 24 h 记录试验蝌蚪的死亡数和中毒症状, 并计算 96 h-LC₅₀。

1.2.1.10 土壤微生物毒性试验(氮转化)

土壤微生物, 试验前添加紫花苜蓿粉作为有机底物, 在试验条件下预培养 6 d。土壤理化条件见下表 2。用丙酮配制不同浓度的试验药液分别与 5 g 石英砂均匀混合, 平铺于通风橱中待丙酮完全挥发后, 再与提前预培养的土壤均匀混合, 得到预测环境浓度 PEC(0.140 mg a.i. · kg⁻¹ 干土) 和 5 倍 PEC(0.700 mg a.i. · kg⁻¹ 干土) 2 个处理浓度。同时设置空白对照与溶剂对照组, 每个处理 3 个重复。染毒 0 d、7 d、

表 2 土壤理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of test soils

含沙量 Sand content	pH	有机碳含量 TOC	阳离子交换量 CEC	微生物量 Microbial biomass	底物碳氮比 C/N ratio of substrate
65%	7.34	5.11 g·kg ⁻¹	3.75 cmol·kg ⁻¹	53 mg·kg ⁻¹	12.5/1

14 d、28 d 后, 测定各组硝酸根离子浓度, 并计算处理组与溶剂对照组硝酸盐形成率以及处理组偏离溶剂对照组的百分率。

1.2.1.11 参比试验

为验证试验体系的有效性、可靠性以及试验物种敏感性。对意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.)、家蚕(*Bombyx mori*)、赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)、羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)、大型溞(*Daphnia magna* Straus)和斑马鱼(*Brachydanio rerio*)进行参比试验。意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.)和家蚕(*Bombyx mori*)采用乐果作为试验物质, 试验周期分别为24 h 和 96 h; 蚯蚓(*Eisenia foetida*)选用氯乙酰胺为参比物质, 试验周期为 14 d; 羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)参比物质选用 3,5-二氯苯酚, 试验周期为 72 h; 大型溞(*Daphnia magna* Straus)和斑马鱼(*Brachydanio rerio*)选用重铬酸钾为试验物进行参比试验, 试验时间均为 24 h。其他试验条件和测试方法与上述方法相同。

1.2.2 试验条件

试验条件见表 3。

1.2.3 分析方法的建立

在绿藻、大型溞、斑马鱼、非洲爪蟾急性毒性试验中, 为获得更准确试验结果对试验条件下药液中肝菌酯含量进行测定。按照试验过程中浓度变化超过 20%, 使用实际浓度, 反之则用标识浓度的原则进行最终结果的计算^[8]。本文分别对肝菌酯在试验开始 0 h 和 72 h 采集绿藻试验样本进行含量测定, 对大型溞、斑马鱼、非洲爪蟾试验开始 0 h 和 24 h 样本含量进行测定, 并对肝菌酯的检测分析方法进行验证。

1.2.3.1 提取净化

采集 2.0 mL 试验药液离心后, 分别加入 3.0 mL 乙酸乙酯和 2.0 g 氯化钠漩涡振荡萃取。静置分层后, 转移上层有机相至旋蒸瓶中, 旋蒸至干。吸取 2.0 mL 色谱纯乙腈至旋蒸瓶中充分洗涤内壁, 取提取液 1.5 mL 过 0.22 μm 滤膜, 上机检测。

1.2.3.2 分析条件

采用三重四极杆液相色谱质谱联用仪(岛津 LCMS-8050)对肝菌酯进行分析检测, 仪器条件如下: 色谱柱为 Shim-pack GIST C18(75 mm×2.1 mm,

表 3 测试生物试验条件

Table 3 Culture condition of test organisms

供试生物 Test organism	温度/℃ Temperature/℃	相对湿度/% Relative humidity/%	光:暗/h Photo period/h	硬度/(mg·L ⁻¹) Hardness / (mg·L ⁻¹)	pH	光照条件/Lux Light intensity/Lux	溶解氧 Dissolved oxygen
日本鹌鹑 (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	25.8~27.1	62.3~70.8	14/10	—	—	自然光照 Natural light	—
意大利蜜蜂 (<i>Apis mellifera</i> L.)	25.1~26.3	55.8~64.5	0/24	—	—	全黑暗 All darkness	—
家蚕 (<i>Bombyx mori</i>)	25.6~26.8	73.9~76.2	16/8	—	—	自然光照 Natural light	—
赤子爱胜蚓 (<i>Eisenia foetida</i>)	20.1~22.7	70.1~74.3	24/0	—	6.84	568~591	—
稻螟赤眼蜂 (<i>Trichogramma japonicum</i>)	25.0~25.8	70.5~76.3	0/24	—	—	全黑暗 All darkness	—
羊角月牙藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	22.0~22.4	—	24/0	—	—	4 765~5 270	—
大型溞 (<i>Daphnia magna</i> Straus)	20.6~21.0	—	16/8	171	8.19~8.40	自然光照 Natural light	7.98~8.11 mg·L ⁻¹
斑马鱼 (<i>Brachydanio rerio</i>)	22.6~23.8	—	16/8	171	8.04~8.43	自然光照 Natural light	87.6%~97.9%
非洲爪蟾 (<i>Xenopus laevis</i>)	22.0~22.7	—	16/8	175	8.20~8.42	自然光照 Natural light	87.4%~99.4%
土壤微生物 (Soil micro-organism)	20.1~21.5	73.5~78.3	0/24	—	7.34	全黑暗 All darkness	—

3.0 μm);流动相为纯净水/乙腈(15/85);柱温为 40 °C;流速为 0.200 mL·min⁻¹;进样体积为 0.5 μL;离子源类型为电喷雾电离源 ESI+;检测方式为多反应监测(NMR)离子模式;离子源电压为 4.0 kV;离子源温度为 300 °C;脱溶剂气温度为 250 °C;Heat Block 温度为 400 °C;雾化气流速为 3.0 L·min⁻¹;干燥气流速为 10.0 L·min⁻¹;加热气流速为 10.0 L·min⁻¹;保留时间为 1.700 min。

1.2.3.3 标准曲线

以乙腈为溶剂配制 5.00×10^{-4} 、 7.00×10^{-4} 、 1.00×10^{-3} 、 5.00×10^{-3} 、 1.00×10^{-2} 、 2.00×10^{-2} 、0.200 和 0.400 mg a.i. · L⁻¹ 浓度的标准溶液, 将峰面积与试验浓度线性拟合, 得到标准曲线方程, 其相关系数 R^2 为 0.9959。结果表明, 肝菌酯标准品在 5.00×10^{-4} ~ $0.400 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$ 区间内, 线性良好。

1.2.3.4 添加回收和精密度

分别向藻类培养基(BG11)和溞和鱼培养基(去氯自来水)添加肝菌酯标准品, 使其浓度分别为 5.00×10^{-4} 、0.200 mg a.i. · L⁻¹ 和 2.00×10^{-3} 、0.400 mg a.i. · L⁻¹。

L⁻¹, 每个浓度设置 5 个重复, 采用上述前处理和仪器分析方法, 测定浓度。回收率在 92.4% ~ 106% 间, 具体见表 4。本方法下, 供试农药的最低检出量为 2.50×10^{-13} g, 最低检出浓度为 5.00×10^{-4} mg a.i. · L⁻¹。

1.3 数据分析与毒性等级划分

急性毒性结果 LC₅₀、LD₅₀、EC₅₀、LR₅₀ 以及 95% 置信区间由软件 SPSS 17.0 概率回归分析计算得出。并以《化学农药环境安全评价试验准则》^[5] 标准为依据, 判断肝菌酯对不同非靶标生物的毒性等级。

表 4 BG11 和去氯自来水中的平均添加回收率

Table 4 Average recovery in BG11 and tap water

浓度/(mg a.i. · L ⁻¹) Concentration/(mg a.i. · L ⁻¹)	平均回收率 Average recovery	RSD
5.00×10^{-4}	99.0%	5.70%
0.200	106%	2.59%
2.00×10^{-3}	95.9%	3.49%
0.400	92.4%	2.81%

表 5 肝菌酯对水生生物急性毒性试验暴露浓度

Table 5 Experimental concentration of the aquatic acute toxicity test for trifloxystrobin

非靶标生物 Non-target organisms	暴露浓度/(mg a.i. · L ⁻¹)		实测浓度 (72/24 h) Measured concentration
	标示浓度 Nominal concentration	实测浓度 (0 h) Measured concentration	
羊角月牙藻 <i>(Pseudokirchneriella subcapitata)</i>	1.80×10^{-3}	1.40×10^{-3}	6.76×10^{-4}
	5.14×10^{-3}	4.82×10^{-3}	9.19×10^{-4}
	1.47×10^{-2}	1.07×10^{-2}	2.53×10^{-3}
	4.20×10^{-2}	3.39×10^{-2}	3.64×10^{-2}
	0.120	0.119	8.60×10^{-2}
大型溞 <i>(Daphnia magna Straus)</i>	4.05×10^{-3}	3.85×10^{-3}	3.68×10^{-3}
	6.48×10^{-3}	5.21×10^{-3}	4.02×10^{-3}
	1.04×10^{-2}	8.00×10^{-3}	5.65×10^{-3}
	1.66×10^{-2}	1.65×10^{-2}	1.36×10^{-2}
	2.65×10^{-2}	2.13×10^{-2}	1.89×10^{-2}
斑马鱼 <i>(Brachydanio rerio)</i>	4.25×10^{-2}	4.05×10^{-2}	2.87×10^{-2}
	7.00×10^{-2}	3.57×10^{-2}	2.76×10^{-2}
	9.45×10^{-2}	4.22×10^{-2}	2.95×10^{-2}
	0.128	6.54×10^{-2}	4.56×10^{-2}
	0.172	0.118	8.61×10^{-2}
非洲爪蟾 <i>(Xenopus laevis)</i>	0.233	0.139	0.149
	0.314	0.197	0.180
	3.50×10^{-2}	3.36×10^{-2}	3.65×10^{-2}
	4.76×10^{-2}	4.48×10^{-2}	4.22×10^{-2}
	6.47×10^{-2}	5.78×10^{-2}	5.41×10^{-2}
<i>(Xenopus laevis)</i>	8.80×10^{-2}	8.42×10^{-2}	7.13×10^{-2}
	0.120	0.101	0.104
	0.163	0.149	0.133

2 结果与分析(Results and analysis)

2.1 肝菌酯对非靶标生物急性毒性

试验期间,各试验对照组以及鹌鹑、蚯蚓、蜜蜂毒性试验处理组,均未发现任何异常表现。其他物种低浓度组行为状况与对照组基本相似,但随着暴露浓度的升高,中毒症状加大,最终导致死亡。其中家蚕在观察期内家蚕出现蚕体呈现“S”型、蚕体萎缩、取食明显减少并伴有吐水等现象,高浓度值组尤其明显。羊角月牙藻试验中观察出现藻类细胞分裂变少。藻液变白中毒现象。大型溞则随着浓度的增加出现游动能力减弱、沉于容器底部等毒性效应。斑马鱼染毒后出现游动缓慢、失去平衡等中毒症状,随着暴露时间的延长,高浓度组的活力大幅减弱,最终鳃盖翘起死亡。非洲爪蟾蝌蚪在高剂量处理组中毒后出现游动吃力、尾部折向一侧的现象。

同时根据浓度分析结果显示(表5),试验开始时

实测浓度低于理论标示浓度,由于肝菌酯加入水中后,一部分农药扩散至大气中,而进入水体的部分也会受水体pH、温度等因素发生水解和光解效应,同时还会发生部分生物降解,造成水体中起始实测浓度低于标示浓度^[16]。而与暴露开始0 h的实测浓度相比,试验结束时实测浓度变化超过20%,证明肝菌酯在测试条件下存在水化学降解行为。符合刘慧君^[17]研究结果,肝菌酯在pH 6.0~10.0范围内,其降解速率随着pH和温度的升高逐渐加快,在pH为7.0时仍为中等降解性。且随着浓度增大,变化率减小,即初始浓度与光解和水解的速率成反比,初始浓度越大,降解速率越慢^[17]。为了维持试验浓度本试验均采用半静态方法,并由于标示浓度计算结果不能真实反映肝菌酯的毒性效应,水生物试验选用换水周期内实测浓度的几何平均数计算最终结果,用于安全性评价。

表6 肝菌酯对非靶标生物的急性毒性
Table 6 Toxicity of trifloxystrobin to non-target organisms

非靶标生物 Non-target organisms	回归方程 Regression equation	EC ₅₀ /LC ₅₀ / LD ₅₀ /LR ₅₀	95%置信区间 95% C. L.	毒性等级 Toxicity grade
日本鹌鹑-经口 <i>Coturnixcoturnix japonica</i> -Oral	—	>2.00×10 ³ mg a.i. · kg ⁻¹ bw	—	低毒 Low toxicity
日本鹌鹑-饲喂 <i>Coturnixcoturnix japonica</i> -Dietary	—	>5.00×10 ³ mg a.i. · kg ⁻¹ 饲料	—	低毒 Low toxicity
蜜蜂-接触 Honeybee-Contact	—	>100 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	—	低毒 Low toxicity
蜜蜂-经口 Honeybee-Oral	—	>95.3 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	—	低毒 Low toxicity
家蚕 Silkworm	Y=-11.330+3.533X	1.61×10 ³ mg a.i. · L ⁻¹	1.48×10 ³ ~1.75×10 ³ mg a.i. · L ⁻¹	低毒 Low toxicity
蚯蚓 Earthworm	—	>100 mg a.i. · kg ⁻¹ 干土	—	低毒 Low toxicity
赤眼蜂 <i>Trichogramma japonicum</i>	Y=1.716+3.638X	0.337 μg a.i. cm ⁻²	0.310~0.368 μg a.i. · cm ⁻²	高风险 High risk
绿藻-生长抑制率 Alga-Inhibition	Y=2.297+1.027X	5.80×10 ⁻³ mg a.i. · L ⁻¹	4.38×10 ⁻³ ~7.64×10 ⁻³ mg a.i. · L ⁻¹	高毒 High toxicity
绿藻-生长率 Alga-Growth	Y=0.956+0.850X	7.50×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	4.85×10 ⁻² ~0.135 mg a.i. · L ⁻¹	高毒 High toxicity
大型溞 <i>Daphnia magna</i> Straus	Y=5.088+2.885X	1.72×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	9.58×10 ⁻³ ~4.93×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	剧毒 Extreme toxicity
斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i>	Y=5.895+4.650X	5.40×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	4.97×10 ⁻² ~5.86×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	剧毒 Extreme toxicity
非洲爪蟾 <i>Xenopus laevis</i>	Y=4.776+4.557X	8.95×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	8.40×10 ⁻² ~9.58×10 ⁻² mg a.i. · L ⁻¹	剧毒 Extreme toxicity

肟菌酯对环境非靶标生物的浓度效应关系、半致死浓度/剂量以及其 95% 置信区间见表 6。而土壤微生物(氮转化法)毒性试验中,在第 28 天测定的硝酸盐形成速率在 PEC 与 5 倍 PEC 浓度下与溶剂对照组相比分别为 8.58%、8.98%,均不大于 25%,即肟菌酯对土壤微生物的氮转化能力无长期影响效应。

同时通过对蜜蜂、家蚕、蚯蚓、羊角月牙藻、大型溞和斑马鱼等试材进行参比物试验表明,其结果均在《化学农药环境安全评价试验准则》^[8]规定范围内(表 7),表明本试验体系有效可靠,物种可用于毒性试验。

2.2 毒性等级划分

根据《化学农药环境安全评价试验准则》^[8],肟菌酯对鸟类、蜜蜂、家蚕、蚯蚓毒性等级为低毒,赤眼蜂、藻类毒性等级为高风险和高毒,溞类、斑马鱼、非洲爪蟾毒性等级为剧毒。

3 结论与讨论(Conclusion and discussion)

肟菌酯对环境中的非靶标生物的毒性有着明显的差别。其对鸟类、蜜蜂、家蚕以及蚯蚓 4 种非靶标环境陆生生物表现为低毒,且对土壤微生物的氮转化没有长期影响。而对天敌赤眼蜂的毒性效应明显,属高风险。因此该药剂对赤眼蜂以外的大部分非靶标陆生环境生物相对安全,因此在实际生产中,通过人工放蜂进行生物防治时应注意避开该杀菌剂

的施药期以降低肟菌酯对赤眼蜂的危害。同时对比金啸等^[3]等研究显示肟菌酯对赤眼蜂分别为中等风险和低风险,与本实验结果有差异。在赤眼蜂急性毒性试验通常选用赤眼蜂最敏感的时期——成蜂期^[18]用于测试,但同处于成蜂期的赤眼蜂由于耐药性^[19]和种类的不同对相同农药也存在明显差别^[20]。文献中的赤眼蜂与本试验选用赤眼蜂种类和耐药性存在差异,故赤眼蜂间敏感性的差异是可能造成结果不相同的主要因素^[21-22]。

而肟菌酯对藻类、溞类、鱼类以及天敌两栖类毒性效应显著,属高毒或剧毒。因此在农业生产中,肟菌酯应避免在水体附近使用,以防止药液通过灌溉或者雨水冲刷进入水体,或者通过清洗喷药器具和处理废弃物导致水源的污染,从而对水生生态系统造成破坏,同时还应在使用区域加强施药后相邻水体残留的检测。同时在开发新农药时,应考虑使用混剂,减少肟菌酯对水生非靶标生物的毒害作用,以减少环境风险同时降低生物抗性^[23-24]。

本试验采用危害评估的方法评价肟菌酯对环境生物的损害程度,建立了浓度与生物效应间关联,为肟菌酯对环境非靶标生物进行综合评价且为田间合理安全使用提供科学依据。而环境生物毒性结果虽可以在生态风险评价过程中作为表征物种间特定物质的敏感性差异标准^[25-26],但仍需其他数据进行补充支撑。仅以单一物种的急性毒性数据评估农药危

表 7 参比试验结果
Table 7 Results of reference test

非靶标生物 Non-target organisms	回归方程 Regression equation	LC ₅₀ / LD ₅₀ / EC ₅₀	接受范围 Acceptation criterion	95% 置信区间 95% C. L.
蜜蜂-经口 Honeybee-Oral	$Y=1.339+2.201X$	0.246 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	0.10~0.35 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	0.202~0.327 μg a.i. ·蜂 ⁻¹
蜜蜂-接触 Honeybee-Contact	$Y=1.885+2.807X$	0.213 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	0.10~0.30 μg a.i. ·蜂 ⁻¹	0.190~0.239 μg a.i. ·蜂 ⁻¹
家蚕 Silkworm	$Y=-19.868+6.070X$	1.88×10 ³ mg a.i. ·L ⁻¹	未推荐 No recommendation	1.42×10 ³ ~2.53×10 ³ mg a.i. ·L ⁻¹
蚯蚓 Earthworm	$Y=-10.453+6.339X$	44.6 mg a.i. ·kg ⁻¹ 干土	20~80 mg a.i. ·kg ⁻¹ 干土	37.7~58.9 mg a.i. ·kg ⁻¹ 干土
羊角月牙藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	$Y=-2.413+10.717X$ $Y=-2.593+8.080X$	1.68 mg a.i. ·L ⁻¹ 2.09 mg a.i. ·L ⁻¹	未推荐 No recommendation	1.46~1.85 mg a.i. ·L ⁻¹ 1.87~2.38 mg a.i. ·L ⁻¹
大型溞 (<i>Daphnia magna</i> Straus)	$Y=-0.440+4.281X$	1.27 mg a.i. ·L ⁻¹	0.6~2.1 mg a.i. ·L ⁻¹	1.19~1.35 mg a.i. ·L ⁻¹
斑马鱼 (<i>Brachydanio rerio</i>)	$Y=-27.653+11.743X$	226 mg a.i. ·L ⁻¹	200~400 mg a.i. ·L ⁻¹	220~233 mg a.i. ·L ⁻¹

害性存在不足,同时需要密切结合化学农药的风险与其自身性质、施用方法和使用条件等进行暴露分析评价,以及采用安全系数或应用因子方法和开发模拟生态系统技术改进危害性评价^[27],所以单靠毒理学数据不能完整地反映农药对环境的实际风险。环境风险评估主要分为问题阐述、暴露分析、效应分析和风险表征4个过程。根据相关毒性信息,与预测环境浓度进行比较判断风险的可接受程度,并采取相应措施降低农药的对整个生态环境的风险性。因此,为保护我国水生生态系统中淡水资源的可持续性,进一步结合暴露分析完善肟菌酯对水生生物的毒性相关数据,并开展水生生态系统风险评估工作是今后研究的重点。目前,欧盟、美国和日本等发达国家已经建立较为成熟与完整的风险评估体系,主要为运用公式、模型预测环境浓度,并结合环境生物毒性结果进行风险评价,最终对风险进行表征^[28-30]。国内农药风险评价虽与国外存在一定差距,但已建立生态风险评价准则以及将生态风险评价作为农药登记资料^[31],此项举措有效促进了我国农药生态风险评价工作的开展。

通讯作者简介:何明远,副研究员,主要研究方向为农药毒理学及环境安全评价。

参考文献(References):

- [1] 万宏剑,叶淑芳,谭波.肟菌酯原药高效液相色谱分析[J].农药,2011,50(11): 820-821
Wan H J, Ye S F, Tan B. Analysis of trifloxystrobin by HPLC [J]. Agrochemicals, 2011, 50(11): 820-821 (in Chinese)
- [2] Bostanian N J, Larocque N. Laboratory tests to determine the intrinsic toxicity of four fungicides and two insecticides to the predacious mite *Agistemus fleschneri* [J]. Phytoparasitica, 2001, 29(3): 215-222
- [3] 金啸,尹晓辉,徐志宏,等.四种杀菌剂对两种赤眼蜂的毒性分析及敏感性比较[J].农药学学报,2011,13(6): 649-652
Jin X, Yin X H, Zhu Z H, et al. Analysis and evaluation of four fungicides toxicity and sensitivity against two *Trichogramma* spp. [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2011, 13(6): 649-652 (in Chinese)
- [4] 李丹.常用农用杀菌剂对热带爪蟾胚胎的毒性及其联合效应[D].上海:华东师范大学,2016: 30-41
Li D. Toxicity of commonly used agricultural fungicides on embryos of frogs(*Xenopus tropicalis*) and their joint effects [D]. Shanghai: East China Normal University, 2016: 30-41 (in Chinese)
- [5] Hatakeyama S, Shiraishi H, Kobayashi N. Effects of aerial spraying of insecticides on nontarget macrobenthos in a mountain stream [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 1990, 19(3): 254-270
- [6] Hanazato T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: An ecological perspective [J]. Environmental Pollution (Barking, Essex), 1987, 1990, 112(1): 1-10
- [7] 刘羽晨,乔显亮.水生生物急性毒性QSAR模型研究进展[J].生态毒理学报,2015,10(2): 26-35
Liu Y C, Qiao X L. Progress in quantitative structure-activity relationship models for acute aquatic toxicity [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(2): 26-35 (in Chinese)
- [8] 中华人民共和国国家环境保护部. GB/T 31270—2014 化学农药环境安全评价试验准则[S].北京:中华人民共和国国家环境保护部,2014
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. GB/T 31270-2014 Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides[S]. Beijing: Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China, 2014 (in Chinese)
- [9] EPA. Ecological Effects Test Guidelines, OPPTS 850. 2100: Avian Acute Oral Toxicity Test [R]. Washington DC: US EPA, 2001
- [10] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1998
- [11] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, No 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1998
- [12] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, No 203: Fish, Acute Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1992
- [13] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, No 202: *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test [S]. Paris: OECD, 2004
- [14] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, No 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test [S]. Paris: OECD, 2011
- [15] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, No 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests [S]. Paris: OECD, 1984
- [16] 崔妩鹂,侯志广,张铎,等.氟磺隆水解动力学研究[J].环境科学与管理,2014,39(6): 24-26
Cui W L, Hou Z G, Zhang D, et al. Study on characters of prosulfuron hydrolysis [J]. Environmental Science and Management, 2014, 39(6): 24-26 (in Chinese)
- [17] 刘慧君.新型杀菌剂肟菌酯的环境行为研究[D].北京:中国科学院大学,2014: 31-42
Liu H J. Research on environmental behavior of new type

- fungicide trifloxytrobin [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014: 31-42 (in Chinese)
- [18] 李肇丽, 蔡磊明, 赵玉艳, 等. 3 种新型农药对赤眼蜂的急性毒性和安全性评价[J]. 农药, 2009, 48(6): 435-436
Li Z L, Cai L M, Zhao Y Y, et al. Evaluation of three pesticides acute toxicity and safety on *Trichogramma* [J]. Agrochemicals, 2009, 48(6): 435-436 (in Chinese)
- [19] 吴红波, 张帆, 金道超. 不同种群螟黄赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂的抗药性测定[J]. 植物保护, 2008, 34(5): 107-110
Wu H B, Zhang F, Jin D C. Insecticide resistance test for different geographic populations of *Trichogramma chilonis* and *T. dendrolimi* [J]. Plant Protection, 2008, 34(5): 107-110 (in Chinese)
- [20] 张延峰, 蔡浩, 张帆, 等. 玉米螟卵龄对玉米螟赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂种间竞争的影响[J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(5): 75-80
Zhang Y F, Cai H, Zhang F, et al. Effects of *Ostrinia furnacalis* egg age on interspecific competition between *Trichogramma ostriniae* and *Trichogramma dendrolimi* [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2010, 33(5): 75-80 (in Chinese)
- [21] 杨崇珍, 王兴林, 张兴. 菊酯类杀虫剂对几种赤眼蜂的毒力测定[J]. 农业大学学报, 1995, 23(3): 108-110
Yang C Z, Wang X L, Zhang X. Toxic effects of several pyrethroid insecticides on three species of *Trichogrammatids* [J]. Acta Universitatis Agriculturae Boreali-occidentalis, 1995, 23(3): 108-110 (in Chinese)
- [22] 吴长兴, 王强, 赵学平, 等. 毒死蜱和甲氰菊酯对赤眼蜂毒性与安全评价[J]. 农药, 2008, 47(2): 125-127
Wu C X, Wang Q, Zhao X P, et al. Study on toxicity and safety evaluation of chlorpyrifos and fenpropathrin to *Trichogramma* [J]. Agrochemicals, 2008, 47(2): 125-127 (in Chinese)
- [23] 瞿唯钢, 杨淞霖, 王会利, 等. 3 种杀菌剂及其复配剂对斑马鱼的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 233-237
Qu W G, Yang S L, Wang H L, et al. The toxicity of three pesticides of mefenoxam, fludioxonil, azoxystrobin and their compounds to *Brachydanio rerio* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(2): 233-237 (in Chinese)
- [24] 顾中言, 林郁. 复配农药的作用及复配原则[J]. 江苏农业科学, 1987(11): 10
Gu Z Y, Lin Y. Effect and principles of complex pesticide [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 1987(11): 10 (in Chinese)
- [25] Peña A, Rodríguez-Liébana J A, Mingorance M D. Persistence of two neonicotinoid insecticides in wastewater, and in aqueous solutions of surfactants and dissolved organic matter [J]. Chemosphere, 2011, 84(4): 464-470
- [26] 梁禄, 白雪, 华祖林. 烟碱类农药对水生生物的毒理研究进展[J]. 河海大学学报: 自然科学版, 2017, 45(2): 122-128
Liang L, Bai X, Hua Z L. Advances in research on toxicity of neonicotinoids to aquatic organisms [J]. Journal of Hohai University: Natural Sciences, 2017, 45(2): 122-128 (in Chinese)
- [27] 殷浩文. 水环境生态风险评价程序[J]. 上海环境科学, 1995(11): 11-14
Yin H W. Procedure of ecological risk assessment for water environment [J]. Shanghai Environmental Sciences, 1995(11): 11-14 (in Chinese)
- [28] 何健, 吴文铸, 孔德洋, 等. 农药风险评价技术在农药减量化中的应用[J]. 生态与农村环境学报, 2016, 32(6): 1008-1011
He J, Wu W Z, Kong D Y, et al. Application of pesticide risk assessment techniques to pesticide pollution control [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2016, 32(6): 1008-1011 (in Chinese)
- [29] Miyamoto M, Tanaka H, Katagi T. Ecotoxicological risk assessment of pesticides in aquatic ecosystems [J]. Sumitomo Kagaku R&D Report, 2008, 1: 1-18
- [30] 于彩虹, 王然, 张纪海, 等. 欧盟针对农药对水生生物的初级风险评价——生物富集因子[J]. 农药科学与管理, 2012, 33(7): 57-60
Yu C H, Wang R, Zhang J H, et al. Primary aquatic risk assessment of pesticides in European Commission: Bioconcentration factor [J]. Pesticide Science and Administration, 2012, 33(7): 57-60 (in Chinese)
- [31] 魏启文, 陶传江, 宋稳成, 等. 农药风险评估及其现状与对策研究[J]. 农产品质量与安全, 2010(2): 38-42 ◆